

ПОЛУЧЕНИЕ АСЕПТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ IN VITRO ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *PHILADELPHUS L.*

Крючкова Мария Дмитриевна, студент 4 курса института садоводства и ландшафтной архитектуры, ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К. А. Тимирязева, MarKru2019@mail.ru

Научный руководитель – Ахметова Лилия Рафисовна, ассистент кафедры декоративного садоводства и газоноведения, l.ahmetova@rgau-msha.ru

Аннотация. Разработана технология клонального микроразмножения представителей рода *Philadelphus L.* Подобран оптимальный вариант стерилизаторов и их экспозиции. Выявлены сортовые особенности в получении асептической культуры *in vitro* чубушника.

Ключевые слова: чубушник, клональное микроразмножение, асептическая культура.

Чубушник (*Philadelphus*) – род листопадных кустарников, который относится к семейству Гортензиевые (*Hydrangeaceae*); насчитывает около 50 видов [1]. Кустарник не требователен в уходе, подходит практически для любой ландшафтной композиции [2]. Перед современным отечественным питомниководством стоит задача вырастить достаточное количество посадочного материала для того, чтобы удовлетворить спрос покупателей, так как импортные растения завозятся с большими ограничениями. И одним из способов решения этой задачи является микроклональное размножение [4].

Цель исследования - изучить особенности получения асептической культуры при клональном микроразмножении представителей рода *Philadelphus L.* Исследования проводили в мае - июне 2023 года в лаборатории биотехнологии растений ГБС им. Н.В. Цицина РАН.

Методика исследований. Применяли методику биотехнологических исследований с культурами изолированных тканей и органов растений, основанную на общепринятых классических приемах [3]. Изучали выход жизнеспособных эксплантов при введении в культуру *in vitro* 5 сортов, выведенных знаменитым отечественным селекционером Веховым Н.К.: 'Жемчуг', 'Ромашка', 'Зоя Космодемьянская', 'Воздушный десант', 'Необычный' [5]. Нарезали узловые сегменты текущего года. В качестве основных стерилизующих агентов использовали растворы «Лизоформина 3000» (3 %), гипохлорита кальция $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (3 %) и этилового спирта (70%). Для предстерилизационной обработки применяли промывание

эксплантов в мыльном растворе в течение 10 минут с последующим их промыванием в стерильной дистиллированной воде. Далее экспланты помещали в 3%-ный раствор фунгицида системного действия «Чистоцвет» (д.в.дифеноконазол) на 15 минут и вновь промывали в стерильной воде. На первом этапе непосредственно самой стерилизации часть эксплантов опускали на 3 секунды в 70%-ный этиловый спирт C_2H_5OH , после чего обрабатывали основными стерилизующими растворами, концентрация и время экспозиции которых представлены в таблице 1. Вторую часть эксплантов обрабатывали только в стерилизующих растворах. Опыт проводили в двухкратной повторности по 10 эксплантов в каждом варианте. Через 2 месяца фиксировали выход жизнеспособных эксплантов в каждом варианте обработки. Данные обрабатывали с помощью программного обеспечения *MicrosoftExcel 2019*.

Таблица 1- Условия стерилизации эксплантов

№	Стерилизующие агенты	Концентрация, %	Экспозиция, мин
1	$Ca(ClO)_2$	3	3
2	«Лизоформин 3 000»	3	4
3	C_2H_5OH + $Ca(ClO)_2$	C_2H_5OH : 70 $Ca(ClO)_2$: 3	C_2H_5OH : 3 с $Ca(ClO)_2$: 3 мин
4	C_2H_5OH + «Лизоформин 3 000»	C_2H_5OH : 70 «Лизоформин 3 000»: 3	C_2H_5OH : 3 с «Лизоформин 3 000»: 4 мин

После основной стерилизации экспланты промывали в стерильной воде, сажали в пробирки с безгормональной питательной средой по прописи Кворина-Лепуавра (QL) с добавлением антибиотика «Гентамицина» (1 мг/л). Все манипуляции проводили в стерильных условиях ламинар-бокса. Далее растения культивировали при освещении 2000 – 3000 лк и фотопериоде 16/8 часов, при температуре 23 – 25°C.

Результаты исследований. В результате изучения режимов стерилизации были получены следующие данные (рисунок 1).

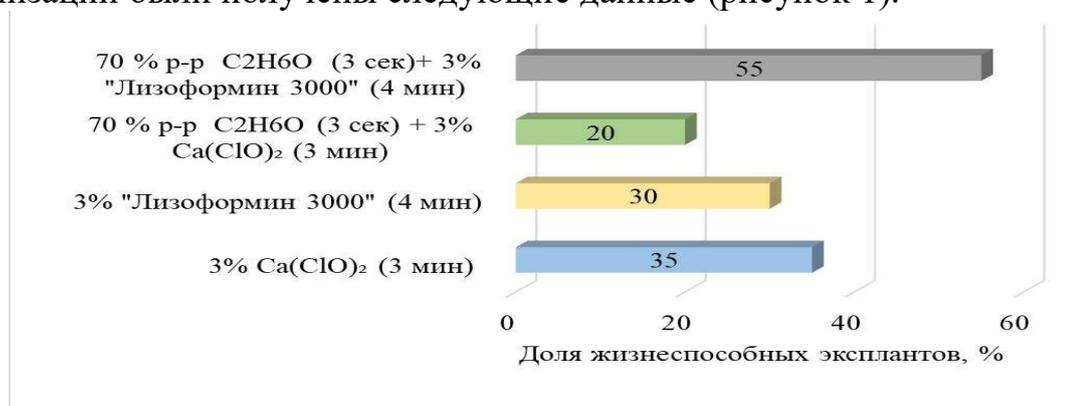


Рисунок 1- Гистограмма долей жизнеспособных

эксплантов при стерилизации различными вариантами опыта

Наибольшей эффективностью независимо от генотипа обладали варианты обработки 70% раствором C_2H_5OH в экспозиции 3 секунды совместно с 3% раствором «Лизоформин 3 000» в экспозиции 4 минуты, выход жизнеспособных эксплантов составил 55%. Наименее эффективной оказалась обработка эксплантов 70% раствором C_2H_5OH в экспозиции 3 секунды совместно с 3% раствором $Ca(ClO)_2$ в экспозиции 3 минуты, выход жизнеспособных эксплантов составил 20%, в данном варианте опыта 80% эксплантов потемнели, наблюдали некроз тканей. Обработка только 3% раствором «Лизоформина 3000» в экспозиции 4 минуты привело к бактериальному поражению регенерантов, в результате чего доля жизнеспособных эксплантов составила всего лишь 30%. При обработке 3% раствором $Ca(ClO)_2$ в экспозиции 3 минуты наблюдали контаминацию регенерантов, выжило 35% эксплантов.

Выводы. В ходе проведенного исследования было выявлено, что для введения представителей рода *Philadelphus L.* в культуру *in vitro* предпочтительно применять узловые сегменты текущего года. Наиболее эффективными стерилизаторами являются «Лизоформин 3000» и $Ca(ClO)_2$.

Библиографический список

1. Абрамчук, А.В. Общие сведения о древесных растениях/ А.В. Абрамчук. – Екатеринбург, 2012. -65 с.
2. Александрова, М.С. Чубушник или садовый жасмин/М.С. Александрова. - Челябинск: НПО «Сад и огород»: Челябинский Дом печати, 2012. - 64 с.
3. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе //М.: ФБК-Пресс. – 1999. – Т. 160. – С. 3.
4. Общая и частная селекция и сортоведение плодовых и ягодных культур : учебник для студентов вузов по агрономическим специальностям / Г. В. Еремин, А. В. Исачкин, И. В. Казаков [и др.]. – Москва : Издательство "МИР", 2004. – 422 с. – (Учебники и учебные пособия для студентов высших учебных заведений). – EDN QKWCLN
5. Смирнова З. И., Рябченко М. Г. Чубушники селекции НК Вехова в Главном ботаническом саду им. НВ Цицина РАН //Бюллетень Главного ботанического сада. – 2016. – №. 3. – С. 20-23.